7 月 July
2019, 62(7): 814 – 822
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2019.07.004

杨小舟蛾雌蛾性信息素活性成分的鉴定

刘 福[1], 郭 丽[2], 李青春[3], 张苏芳[1], 孔祥波[1], 张 真[1,*], 黄范全[3]

(1. 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业和草原局森林保护学重点实验室, 北京 100091;
2. 邢台学院生物科学与工程学院, 河北邢台 054001; 3. 沅江市林业局, 湖南沅江 413100)

摘要:【目的】鉴定杨小舟蛾 *Micromelalopha sieversi* 雌蛾性信息素活性成分的结构信息。【方法】采用正己烷浸提的方法提取杨小舟蛾性成熟处女雌蛾性腺中的活性成分;利用气相色谱-触角电位联用(GC-EAD)技术对其活性成分进行定位;性腺提取物与 4-甲基-1,2,4-三唑啉-3,5-二酮(MTAD)进行微量化学反应,获得衍生物;利用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术分别对性腺提取物及 MTAD 衍生物进行质谱特征离子分析。【结果】GC-EAD 结果显示,杨小舟蛾雄蛾触角对雌蛾性信息素腺体提取物中的一种成分有较好的反应;GC-MS 分析结果表明,能引起雄蛾触角电生理反应的成分为十八碳的不饱和醛;MTAD 衍生物的 GC-MS 结果显示,该活性成分的两个双键分别位于碳链的 13 和 15 位。【结论】本研究鉴定出杨小舟蛾雌蛾性信息素活性成分的平面结构为 13,15-十八碳二烯醛,但双键的立体构型有待合成标准化合物进一步鉴定。本研究为杨小舟蛾性信息素备选化合物的筛选提供了方向,为信息素的结构确证奠定了基础。

关键词: 杨小舟蛾; 性信息素; 活性成分; MTAD 衍生物; 结构鉴定; 气相色谱-触角电位联用; 气相色谱-质谱联用

中图分类号: S763.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 0454-6296(2019)07-0814-09

Identification of the active components of sex pheromone of female moths of *Micromelalopha sieversi* (Lepidoptera: Notodontidae)

LIU Fu[1], GUO Li[2], LI Qing-Chun[3], ZHANG Su-Fang[1], KONG Xiang-Bo[1], ZHANG Zhen[1,*], HUANG Fan-Quan[3] (1. Key Laboratory of Forest Protection of National Forestry and Grassland Administration, Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; 2. Academy of Biological Science and Engineering, Xingtai University, Xingtai, Hebei 054001, China; 3. Forestry Bureau of Yuanjiang City, Yuanjiang, Hunan 413100, China)

Abstract:【Aim】This study aims to identify the structure of active components of sex pheromone of female moths of *Micromelalopha sieversi*.【Methods】The sex pheromone was extracted from sex glands of virgin female moths of *M. sieversi* by n-hexane. The active ingredient was located by gas chromatography-electroantennographic detection (GC-EAD). The additive derivative was obtained by the reaction of the extract from sex glands of virgin female moths with 4-methyl-3H-1, 2, 4-triazole-3, 5 (4H)-dione (MTAD). The characteristic ions of the extract and additive derivative were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).【Results】The GC-EAD results indicated that the antenna of male moth of *M. sieversi* showed sensitive reaction to one component of the extract from sex glands of virgin female moths. Based on the GC-MS data of the extract and additive derivative, the active component of sex pheromone was identified as 13,15-octadecadienal.【Conclusion】The identified planar

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(CAFYBB2016QA008, CAFYBB2016SY017); 北京市自然科学基金项目(6194044)
作者简介: 刘福, 男, 1987 年 1 月生, 山东菏泽人, 博士, 助理研究员, 主要从事昆虫信息素结构和功能研究, E-mail: liufu2006@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhangzhen@caf.ac.cn
收稿日期 Received: 2019-01-30; 接受日期 Accepted: 2019-04-24

structure of the active component of sex pheromone of female moths of *M. sieversi* is 13, 15-octadecadienal, but the stereoscopic configuration of conjugated double bonds needs to be further identified through synthesizing more standard compounds. This study provides the direction in screening synthetic pheromone candidates and establishes the foundation for determining the sex pheromone structure of female moth of *M. sieversi*.

Key words: *Micromelalopha sieversi*; sex pheromones; active component; MTAD derivative; structural identification; gas chromatography-electroantennographic detection (GC-EAD); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

杨小舟蛾 *Micromelalopha troglodyta*，又名杨褐天社蛾、小舟蛾，隶属于鳞翅目(Lepidoptera)舟蛾科(Notodontidae)，是我国主要的杨树食叶害虫，在我国东北、西北、中原和中南等地区猖獗成灾，不仅影响杨树的正常生长，而且破坏生态环境，严重制约了林业经济的发展(郭同斌等, 2000; 陈琳等, 2016)。因此，杨小舟蛾的防治一直是我国林业昆虫学家的重要研究方向，其生物学特性、防治和管理等方面都有较为深入的研究。该虫在我国东北地区每年发生3～4代，华北地区每年发生4～6代，中南部几个省份每年发生5～7代，个别年份和地区可以发生8代，世代重叠现象明显(郭同斌等, 2000; 钱桂芝等, 2008)。老熟幼虫吐丝缀叶化蛹，以蛹越冬。次年4、5月间羽化，蛹羽化表现为“驼峰型”节律特征(范立鹏等, 2014)。杨小舟蛾羽化后当日就可出现求偶、交配行为，存在明显的求偶时辰节律，有2个求偶高峰(陈琳等, 2014; 范立鹏等, 2015)。

目前，防治杨小舟蛾的主要手段为化学防治，虽然防治效果显著，但长期广泛使用化学农药，造成环境污染、杀伤天敌及致使害虫耐药性增强等问题(汤方等, 2009; Tang *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2016)。在物理防治方面可利用频振式杀虫灯诱杀杨小舟蛾成虫，目前主要用于害虫测报(赵爱玲等, 2002)。生物防治手段主要包括释放赤眼蜂、啮小蜂等寄生性天敌和喷洒生物或仿生制剂等(郭同斌, 2007; 于艳华等, 2015; 胡猛等, 2016; 孙妍等, 2016)，然而由于天敌昆虫的饲养、释放要求极为严格，限制了该防治措施的使用范围和规模。转基因技术，虽然杨树是最早开展基因工程的树种之一，且目前已有近20个树种或杂种获得了转基因植株，但此技术存在害虫易对转基因杨树产生抗性和转基因杨树野外种植后对环境造成的生态风险问题(郭同斌等, 2007)。综合看来，单一的防治方法有利有弊，难以达到防治杨小舟蛾虫害的理想效果。从生产应用的角度出发，亟待研发杨小舟蛾持续高效的防治技术。

利用昆虫信息素诱杀、迷向及引诱与驱避结合的推拉防治方式来防治害虫具有高效、无毒、无污染、特异性强、不伤益虫等优点(Gaston *et al.*, 1967; Mori and Evenden, 2015; 马涛等, 2018; 王安佳等, 2018)。另外，昆虫信息素与其他害虫防治措施的配合使用，表现出很好的相容性，已受到国内外学者的高度重视，并正成为害虫综合治理中的重要措施之一(Cook *et al.*, 2007)。目前，对杨小舟蛾的研究多停留在其生物学特性(钱桂芝等, 2008; 范立鹏等, 2014)和传统防治方法(孙妍等, 2016)上，对其性信息素的研究还未见有文献报道。本研究以杨小舟蛾为研究对象，通过色相色谱-触角电位联用(GC-EAD)技术、微量化学反应及气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术，对处女雌蛾性腺提取物进行分析，准确定位其性信息素活性成分，并初步鉴定其结构信息。

1　材料与方法

1.1　供试虫源

杨小舟蛾蛹于2017年7－9月采自湖南省沅江市试验林场(112°18′28.38226″E, 29°3′53.86263″N)，林分类型为5年生107杨(*Populus × euramericana* ‘Neva’)纯林，轻度受害(全年未防治)。蛹的采集方式为第3代老熟幼虫自然下树化蛹后收集。将野外采集的虫蛹带回实验室，用无菌水洗净，晾干后装入40 mL指形瓶，每瓶1头，再将指形瓶移至人工气候箱[日立 NK System Biotron NC Type]进行羽化。羽化环境条件：光周期14L∶10D，光期温度26±1℃，相对湿度50%±10%；暗期温度20±1℃，相对湿度70%±10%。以羽化完成后24 h内的成虫作为1日龄成虫。雄蛾用于GC-EAD分析，处女雌蛾用于提取性信息素。

1.2　杨小舟蛾雌蛾性信息素粗提物的提取

将羽化后第1天的杨小舟蛾雌蛾饲养于养虫笼内，放置蘸有10%蔗糖水的棉球补充营养。经观察

雌蛾进入暗期 30 min 后进入求偶期,此时雌蛾性信息素腺体部分外伸,为雌蛾性信息素提取最佳时间。本实验采取溶剂浸提法,所用溶剂为重蒸正己烷(J&K Scientific Ltd.)。于羽化后第 1 天的 19:00 – 21:00 时间段采集处于求偶期的处女雌蛾 180 头,待其性信息素腺体外伸时用手轻轻挤压雌蛾腹部,迫使其完全伸出性信息素腺体,用镊子取下性腺,将腺体放入预先装有 100 μL 重蒸正己烷的样品瓶内(内径 1.2 cm,高 3.2 cm),静置浸提 30 min(时间不要超过 40 min,避免脂肪酸等杂质成分)。10 头雌蛾性腺提取物为一组,浸提液无水硫酸钠干燥,经有机滤头(Agilent, Φ 13 mm × 0.22 μm)过滤后,用瓶塞密封后置入冰箱中低温(–20℃)保存备用。

1.3 性信息素腺体提取物与 4-甲基-1,2,4-三唑啉-3,5-二酮(MTAD)的衍生化反应

电子轰击(EI)下,碳碳双键不容易断裂,并且易发生氢原子重排,很难直接根据质谱的碎片离子来判断双键的位置。亲二烯体化合物 4-甲基-1,2,4-三唑啉-3,5-二酮(MTAD)与共轭二烯类化合物容易发生 Dies-Alder 环加成反应,原理见图 1。MTAD 衍生物在质谱条件下,易产生特征碎片离子,用于确定共轭双键的位置。向杨小舟蛾性信息素腺体的正己烷提取物中加入 4 μL MTAD (J&K Scientific Ltd.)的二氯甲烷溶液(质量浓度为 1 g/L),室温条件下反应 30 min 后,将粉红色的反应溶液在微弱的氮气流下浓缩至 2 μL,直接进样进行 GC-MS 分析。

共轭双烯 Conjugate diene + 4-甲基-1,2,4-三唑啉-3,5-二酮 4-Methyl-3H-1,2,4-triazole-3,5(4H)-dione (MTAD) → MTAD衍生物 MTAD derivative

图 1 4-甲基-1,2,4-三唑啉-3,5-二酮(MTAD)衍生物的产生原理
Fig. 1 Production principle of 4-methyl-3H-1,2,4-triazole-3,5(4H)-dione (MTAD) derivative

1.4 雌蛾性信息素提取物的 GC-EAD 分析

将羽化后 1 – 2 d 的杨小舟蛾雄蛾触角用解剖剪剪下,将触角顶端剪除约 0.5 mm,处理后触角长度约 10 mm,用导电硅胶将触角与 EAG 探头(PRG-2)叉状触角固定器的两个银电极联接,然后将电极插入 EAG 探头中。分析采用的气相色谱柱为 HP-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, J&W Scientific, Folsom, 加拿大),出口端接分流器(OSS-2, SGE, 澳大利亚),分流比 1∶2,分流的化合物一部分导入氢火焰离子检测器(FID),另一部分经过加热套吹向触角(EAD),用 GC-EAD 软件(Syntech,荷兰)同步记录 GC-EAD 图。气相分析条件为(Agilent 7890A):进样口温度:220℃,检测器温度为 230℃;柱头压 15 psi 平均柱流速是 45.1 cm/s;分流阀 0.75 min 后打开,分流流速是 40 mL/min。升温程序:起始温度 60℃,保持 1 min,以 6℃/min 的速率升至 280℃,保持 10 min。

记录到的信号经放大器连接到 IDAC 转换器(Auto Spike, IDAC2/3, Syntech),通过计算机软件(EAD 版本 4.6, Syntech)采集和分析数据。重复记录 5 头雄蛾触角对性腺提取物的电位反应。

1.5 雌蛾性腺提取物及性腺提取物的 MTAD 衍生物 GC-MS 分析

杨小舟蛾处女雌蛾性信息素腺体提取物(10 个雌虫当量,10 FE)及性腺提取物的 MTAD 衍生物的成分分析在 Thermo Finnigan Trace DSQ GC-MS 上分析(EI mode: 70 eV, 无分流进样),质量扫描范围是 41 ~ 460 amu。

色谱柱为 HP-5MS 毛细管柱(30 m × 0.25 mm ID × 0.25 μm film thickness, J&W Scientific, Folsom, 加拿大),进样 2 μL,无分流进样。升温程序:起始温度 60℃,保持 1 min,以 6℃/min 的速率程序升温至 280℃,保持 10 min。电离方式 EI,电离能量为 70 eV,离子源发生器温度为 250℃,质量扫描范围为 41 ~ 460 amu。通过 GC-MS 总离子流色谱图与 GC-EAD 图谱分析,根据联机的 Nist 11 数据库检索并结合质谱图中分子离子峰和碎片离子峰对杨小舟蛾性信息素活性成分的结构进行鉴定。

2 结果

2.1 杨小舟蛾处女雌蛾性腺提取物 GC-EAD 分析

通过 GC-EAD 分析,我们发现处女雌蛾性腺提

取物中存在能引起杨小舟蛾雄蛾触角电生理反应的成分，其保留时间为 21.89 min（图 2）。因此，我们对杨小舟蛾雌蛾性腺提取物中的活性成分进行了准确定位。

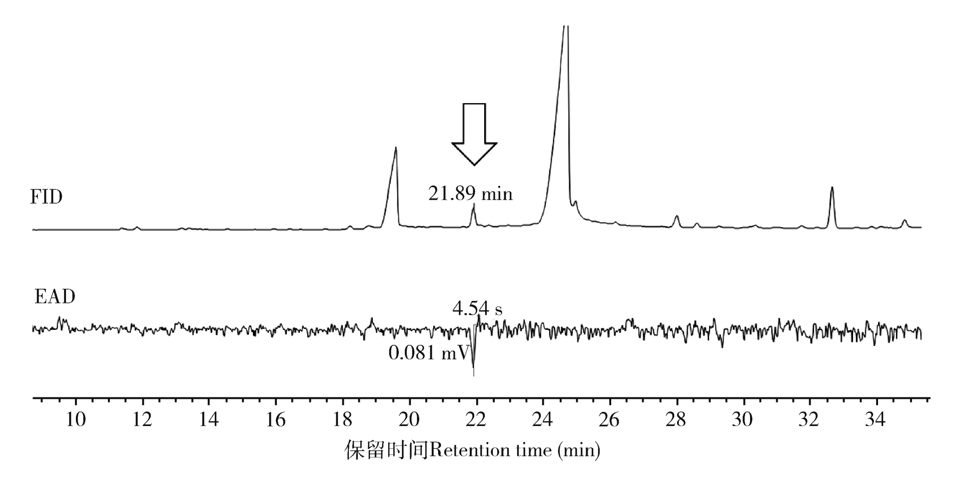


图 2　杨小舟蛾雄蛾触角对处女雌蛾性腺提取物的气相色谱-触角电位（GC-EAD）反应（N = 5）

Fig. 2　GC-EAD responses of the antennae of male moths of *Micromelalopha sieversi* to extracts from sex glands of virgin females（N = 5）

2.2　杨小舟蛾处女雌蛾性腺提取物及 MTAD 衍生物 GC-MS 分析

2.2.1　杨小舟蛾处女雌蛾性腺提取物 GC-MS 分析结果：按照与 GC-EAD 测试相同的色谱条件，对杨小舟蛾处女雌蛾性腺体提取物进行 GC-MS 分析，得到提取物的 GC-MS 图（图 3）。结果显示，杨小舟蛾性腺提取物质谱图在保留时间 22.05 min 存在疑似信息化学物质的色谱峰（图 3）。

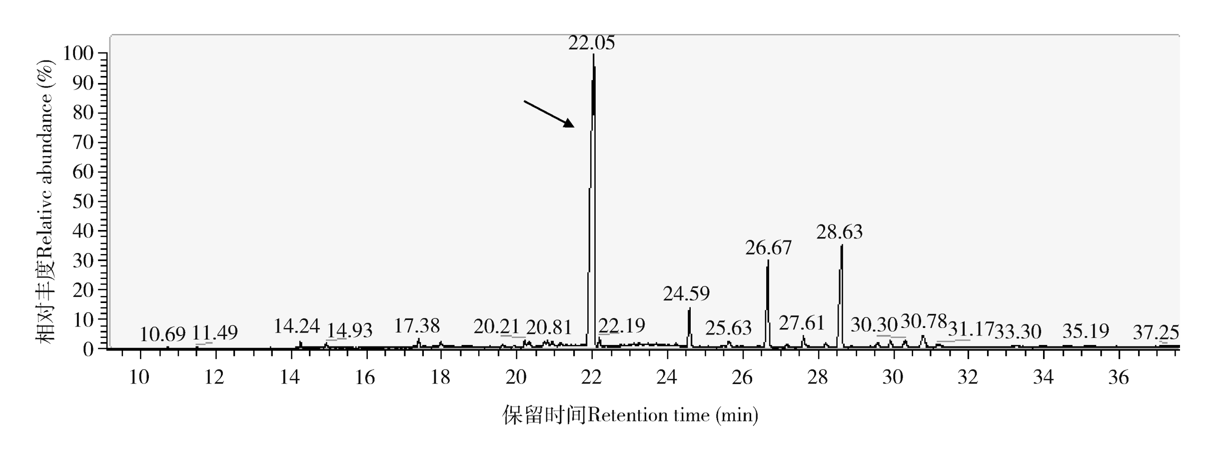


图 3　杨小舟蛾处女雌蛾性腺提取物的气相色谱-质谱图

Fig. 3　Gas chromatography-mass spectrometry of extracts from sex glands of virgin female moths of *Micromelalopha sieversi*

根据保留时间 22.05 min 色谱峰的质谱检索结果，疑似化合物的分子离子峰 *m/z* 为 264，分子式为 $C_{18}H_{32}O$；同时质谱图中包含 *m/z* 为 44 的碎片峰，为醛类化合物开裂的特征峰（图 4）。根据饱和度计算［即（碳的个数乘 2 加 2 减去氢的个数）/2］，该化合物不饱和度为 3，扣除羰基不饱和度 1，剩余不饱和度为 2，因此推断该结构中含有两个双键或者一个炔键。依据上述质谱特征，我们推断杨小舟蛾性腺提取物主要活性成分为十八碳的不饱和醛。

2.2.2　MTAD 衍生物 GC-MS 分析结果：为了进一步解析结构中的不饱和官能团（双键或炔键）信息，我们将杨小舟蛾性腺提取物与 4-甲基-1，2，4-三唑啉-3，5-二酮（MTAD）进行微量衍生化反应。结果显示，MTAD 可与性腺提取物中的活性成分形成衍生物，GC-MS 图显示保留时间为 32.32 min（图 5），因此，不饱和基团为两个双键，性信息素活性成分的结构是十八碳二烯醛。

通过分析衍生物质谱图中各种特征碎片离子

(图 6)，确定双键的位置。衍生物(保留时间:32.32 min)分子离子峰是 *m/z* 377(M^+，相对丰度 7%)；基峰是 *m/z* 194($[M\text{-}183]^+$，相对丰度 100%)，这主要是由共轭二烯体系一端的烃基侧链断裂形成；另外一个主要特征离子峰是 *m/z* 137($[194\text{-}CH_3NCO]^+$，相对丰度 15%)，它主要是从基峰碎片离子上进一步裂解下异氰酸甲酯(CH_3NCO)碎片形成(图 7)。由上述特征碎片离子推断，不饱和双键位于碳链的第 13 和 15 位，因此，杨小舟蛾性腺提取物的活性成分的平面结构为 13,15-十八碳二烯醛。

该化合物含有两个共轭双键，存在 4 种异构体化合物[(顺,顺)、(顺,反)、(反,反)、(反,顺)-13,15-十八碳二烯醛](图 8)。由于该化合物提取量少，不能通过核磁共振等方法确定双键的构型，同时通过化合物库检索，目前尚未有相应商品化的标准物，不能通过标准化合物的生物测试来鉴定杨小舟蛾性信息素活性成分的立体结构。

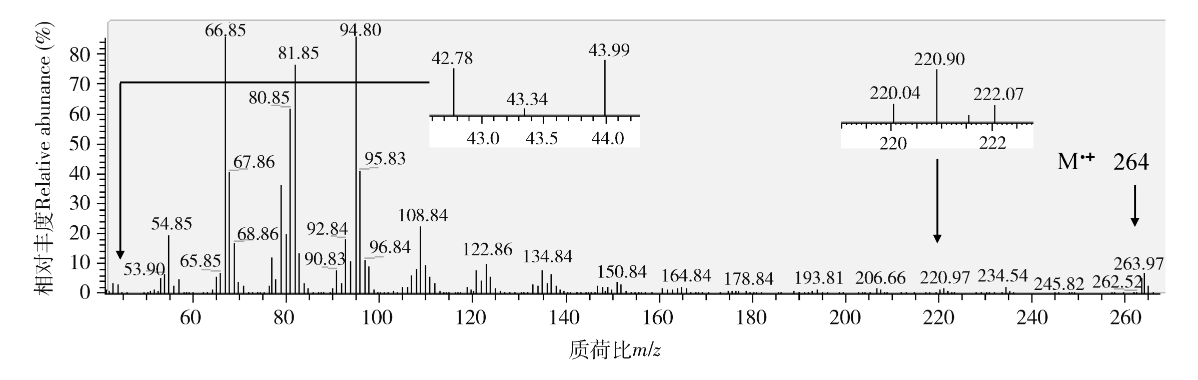


图 4　杨小舟蛾处女雌蛾性腺提取物的质谱图

Fig. 4　Mass spectrometry of extracts from sex glands of virgin female moths of *Micromelalopha sieversi*

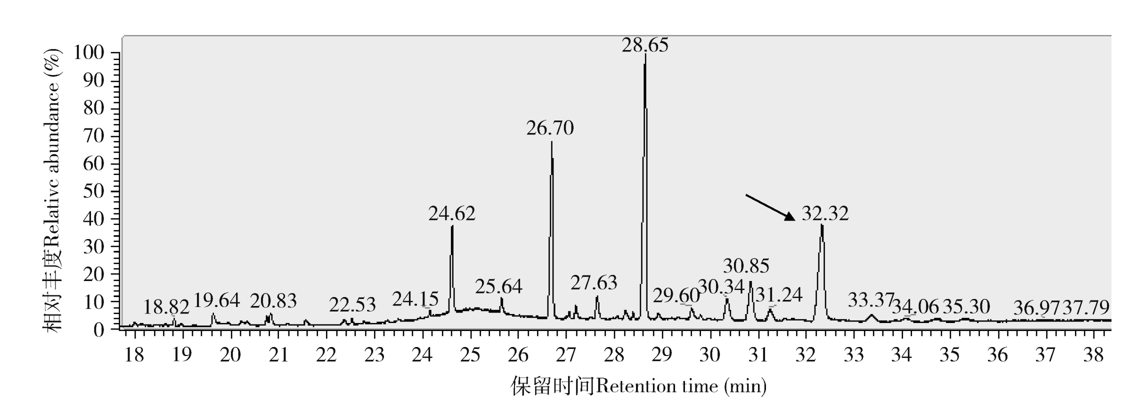


图 5　杨小舟蛾处女雌蛾性腺提取物与 MTAD 衍生物的气相色谱-质谱图

Fig. 5　Gas chromatography-mass spectrometry of the additive derivative of extracts from sex glands of virgin female moths of *Micromelalopha sieversi* and MTAD

m/z 377　*m/z* 194　*m/z* 137　*m/z* 57

图 6　杨小舟蛾雌蛾性腺提取物与 MTAD 衍生物离子碎片裂解方式

Fig. 6　Characteristic ion fragments of MTAD derivative of extracts of virgin female moths of *Micromelalopha sieversi* and MTAD

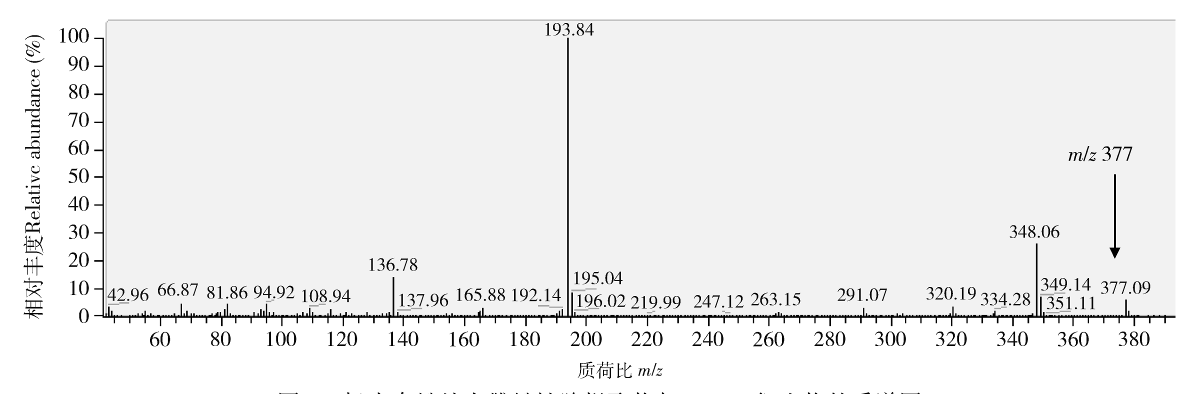


图 7　杨小舟蛾处女雌蛾性腺提取物与 MTAD 衍生物的质谱图

Fig. 7　Mass spectrometry of the additive derivative of extracts from sex glands of virgin female moths of *Micromelalopha sieversi* and MTAD

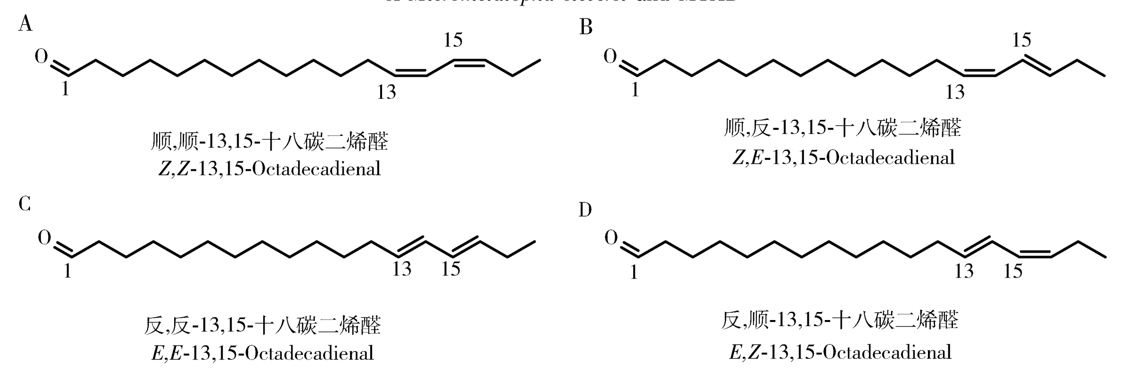


图 8　13,15-十八碳二烯醛的 4 种异构体化合物

Fig. 8　Four isomers of 13,15-octadecadienal

3　讨论

舟蛾科成虫依赖性信息素进行两性之间的信息交流,完成生殖行为。舟蛾成虫求偶期间雌蛾触角平伸或伸向前方,双翅略伸展,振动,释放性信息素时产卵管伸出腹末,有节奏地收缩,直径约 1 ~2 mm 半球形淡黄色性信息素腺体露出体外,不断颤动,整个过程持续几十分钟或几个小时。雄蛾接收到性信息素信号后触角即竖起,不断摆动,然后振翅飞向雌蛾,下落后与之交尾(武春生和方承莱, 2003; 张慧艳等, 2007)。如松异舟蛾 *Thaumetopoea pityocampa* 雌虫在暗期后 3 –5 h 开始求偶,平均求偶时间为 6 ~7 h(Zhang and Paiva, 1998)。*T. bojeani* 雌蛾在 2 日龄才产生求偶召唤行为,在第 2 天午夜时达到高峰(Frérot *et al*., 1990)。杨扇舟蛾求偶时,雌蛾触角向前伸展,双翅呈"八"字型展开并微微颤动,尾端性腺伸出并有节奏的收缩,此时释放出性信息素。雄蛾受到性信息素刺激后触角上下摇动,起飞追寻气味源,找到配偶完成交配行为(梁振普等, 2006; 樊斌琦等, 2009)。本研究组前期发现,杨小舟蛾雌蛾进入暗室 10 ~30 min 后,雌蛾表现出躁动的行为反应,振翅飞舞,此时雌蛾的产卵器间歇或持久性外伸,雄蛾开始爬动跳跃,追逐异性,两性之间产生互动关系。在此之后雌蛾做出性腺外伸、膨胀、振翅等释放性信息素的典型特征行为(范立鹏等, 2015)。因此,利用杨小舟蛾暗期求偶,伴随释放性信息素的特征,采用正己烷浸提处于求偶期杨小舟蛾处女雌蛾的性腺体,从而获得对杨小舟蛾雄蛾触角具有显著电生理反应(EAG 反应)的活性提取物。

到目前为止,已鉴定出 10 种舟蛾科昆虫的性信息素活性成分(Ando *et al*., 2004; 张慧艳等, 2007)。*Oligocentria semirufescens* 的性信息素主要成分是 *Z*7-12:OH,该成分对 *Schizura semirufescens* 雄蛾同样具有引诱作用(Roelofs, 1971)。*Heterocampa guttivitta* 的性信息素成分为 *Z*13,*Y*11-16:Ald,结构中含有特殊的共轭烯炔结构(Silk *et al*., 2000)。*Z*13, *Y*11-16: OAc 分别为 *T. pityocampa*, *T. wilkinsoni* 和 *T. processionea* 性信息素的主要成分(Guerrero *et al*., 1981; Halperin, 1985; Breuer *et al*., 2003);而 *T. bonjeani* 的性信息素是 *Z*11, *Z*13-16:Ald 和 *Z*11, *Z*13-16:OH 的混合物,两者之间的

比例为 4∶1（Frérot *et al*., 1990）。*Z*11,*Z*13-16∶Ald 与 *Z*11, *Z*13-16∶OAc 分别是 *Notodonta dromedaries* 与 *N. torva* 性信息素的活性成分,*N. dromedaries* 雌虫腺体中含有 11,13-16∶OAc 的 4 种异构体和 11,13-16∶OH 的 4 种异构体,*N. torva* 雌虫腺体中同样含有 11,13-16∶OH 的 4 种异构体,这些组分可能是性信息素合成的前体（Bestman *et al*., 1991, 1993）。*Clostera anastomosis* 性信息素主要成分的结构为含有两个双键的十四碳烯醛,但是双键位置及构型并未得到确定（王淑芬等, 1999）。从结构特征上分析,目前所确定的舟蛾科性信息素一般多含有 16 个碳原子,碳链末端有不同的醇、醛和酯官能团。在确定性腺提取物活性成分的基础上,本研究通过该成分的相对分子量、特征碎片离子峰,依靠根据饱和度计算,初步鉴定其性信息素活性成分的结构为十八碳不饱和醛。

在室温条件下,杨小舟蛾雌蛾性信息素腺体提取物中的二烯化合物（十八碳二烯醛）与 4-甲基-1,2,4-三唑啉-3,5-二酮（MTAD）亲二烯体,发生 Diels-Alder 环加成反应,生成环状衍生物;通过质谱分析,我们寻找到分子离子峰,以及分子量相差 57（CH_3NCO）的两个特征离子碎片峰（基峰 *m/z* 194, *m/z* 137［194-CH_3NCO］$^+$）;分子离子峰的相对分子质量扣除基峰碎片的相对分子质量,从而确定了不饱和双键位于碳链的第 13 和 15 位,以此鉴定该活性成分的平面结构为 13,15-十八碳二烯醛。蛾类昆虫利用特定结构的性信息素成分实现种内信息交流和种间生殖隔离,性信息素成分主要的结构特点:（1）具有醇、醛或酯类官能团;（2）碳链具有不同的饱和程度;（3）双键具有不同位置及立体构型。信息化学物质的位置异构体、几何异构体、光学异构体的细微差异,都能导致其生物活性的巨大改变（Mori, 1996）。性信息素成分空间立体结构的鉴定是昆虫性信息素防治的前提,目前利用质谱方法研究碳链中的双键位置及立体异构体一直是昆虫性信息素鉴定的热点问题（Buser *et al*., 1983; Dunkelblum *et al*., 1985; Takano *et al*., 1989; 孔祥波等, 2004, 2010）。在电子轰击（EI）条件下,由于碳碳双键不容易断裂,并且较容易发生氢原子重排,导致很难直接根据质谱的碎片离子来判断双键在碳链中的位置（Carlson *et al*., 1989）。目前,对于碳链中不饱和双键位置的确定,主要依靠化学衍生化的方法来解决。链状结构中含一个双键官能团,通常使用二甲基二硫醚（dimethyl disuldide, DMDS）衍生化,DMDS 衍生物产生很强的分子离子峰。在 GC-MS 图中,衍生物的裂解位置主要位于甲硫醚取代后的 2 个碳原子之间（原双键处）,根据裂解产生的特征碎片离子,从而推断双键的位置（孔祥波等, 2010）;而对于信息素结构中含有共轭双键化合物可用 4-甲基-1,2,4-三唑啉-3,5-二酮（MTAD）衍生化处理,产生的环状衍生物色谱峰峰形较好。在质谱中,基峰一般由共轭二烯体系一端的烃基侧链断裂形成;另一特征离子为基峰离子裂解掉异氰酸甲酯（CH_3NCO, *m/z* 57）;因此,在进行质谱图分析时,只要找到相对分子质量相差 57（CH_3NCO）的两个特征离子峰,然后通过分子离子峰、基峰的相对分子质量,准确判断出共轭双键的位置（McElfresh and Millar, 1999; 孔祥波等, 2004）。MTAD 微量衍生化方法,具有样品前处理简单、用量少、灵敏高的优点,易于推测共轭二烯类信息素化合物双键的位置。

本研究采用微量化学衍生的方法,首次鉴定杨小舟蛾性信息素活性成分的平面结构为 13,15-十八碳二烯醛,而以往的研究表明舟蛾科昆虫性信息素多为十六碳的不饱和醇、醛及乙酸酯类成分。这一结果,不仅丰富了鳞翅目昆虫性信息素成分化学结构的多样性,为我国其他舟蛾科林业害虫性信息素成分的鉴定技术提供借鉴,而且为杨小舟蛾雌蛾性信息素活性成分的备选化合物的筛选提供了方向。但是,由于杨小舟蛾雌蛾腺体分泌的性信息素含量少,同时未有商品化的标准化合物,活性成分双键的立体结构信息未得到确证,期望在后续的研究中,通过立体合成的方法制备 4 种异构体成分,结合生物测试（室内风洞、野外诱捕等）,完成其空间立体构型鉴定,填补其性信息素研究的空白,为利用性信息素对该虫种群进行监测和无公害防治提供应用基础。

参考文献（References）

Ando T, Inomata SI, Yamamoto M, 2004. Lepidopteran sex pheromones. *Top. Curr. Chem*., 239: 51–96.

Bestmann HJ, Kern F, Schǔfer D, Vostrowsky O, 1993. (11*Z*,13*Z*)-11,13-hexadecadienal, the sex pheromone of females of *Notodonta dromedaries*. *Naturwissenschaften*, 80(6): 271–273.

Bestmann HJ, Kern F, Schäfer D, Vostrowsky O, Hasenfuss I, 1991. (11*Z*,13*Z*)-11,13-hexadecadienyl acetate, the sex pheromone of females of *Notodonta torva*. *Naturwissenschaften*, 78: 465–467.

Breuer M, Kontzog HG, Loof AD, 2003. The sex attractant pheromone of the oak processionary, *Thaumetopoea processionea* a field evaluation. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci*., 68(4 Pt A): 203–208.

Buser HR, Arn H, Guerin P, Rauscher S, 1983. Determination of double bond position in mono-unsaturated acetates by mass spectrometry of dimethyl disulfide adducts. *Anal. Chem.*, 55(6): 818 – 822.

Carlson DA, Roan CS, Yost RA, Hector J, 1989. Dimethyl disulfide derivatives of long chain alkenes, alkadienes, and alkatrienes for gas chromatography/mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 61: 1564 – 1571.

Chen L, Wang GL, Wei HY, 2014. Circadian rhythm of emergence and reproduction of *Micromelalopha troglodyta* (Lepidoptera: Notodontidae). *Chin. J. Appl. Ecol.*, 25(8): 2425 – 2430. [陈琳，王广利，魏洪义，2014. 杨小舟蛾的羽化和生殖行为节律. 应用生态学报，25(8): 2425 – 2430]

Cheng H, Tang F, Li W, Xu M, 2016. Tannic acid induction of a glutathione S-transferase in *Micromelalopha troglodyta* (Lepidoptera: Notodontidae) larvae. *J. Entomol. Sci.*, 50(4): 350 – 362.

Cook SM, Khan ZR, Pickett JA, 2007. The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annu. Rev. Entomol.*, 52: 375 – 400.

Dunkelblum E, Tan SH, Silk PJ, 1985. Double-bond location in monounsaturated fatty acids by dimethyl disulfide derivatization and mass spectrometry: application to analysis of fatty acids in pheromone glands of four Lepidoptera. *J. Chem. Ecol.*, 11(3): 265 – 277.

Fan BQ, Lin JH, Hao DJ, Wang Y, Ma FL, 2009. Study on biological activity of extracts from female sex pheromone gland of *Clostera anachoreta*. *J. For. Eng.*, 23(2): 64 – 66. [樊斌琦，林家淮，郝德君，王焱，马凤林，2009. 杨扇舟蛾雌蛾性信息素腺体提取物的生物活性. 林业工程学报，23(2): 64 – 66]

Fan LP, Huang FQ, Wang HB, Li GH, Kong XB, Zhang SF, 2015. Reproductive behavior of *Micromelalopha sieversi* (Lepidoptera: Notodontidae). *Sci. Silv. Sin.*, 51(8): 60 – 66. [范立鹏，黄范全，王鸿斌，李国宏，孔祥波，张苏芳，2015. 杨小舟蛾(鳞翅目：舟蛾科)的生殖行为. 林业科学，51(8): 60 – 66]

Fan LP, Zhang Z, Liu YX, Yu ZJ, Kong XB, 2014. Factors impacting the emergence rhythm and rate of *Micromelalopha sieversi* (Lepidoptera: Notodontidae). *For. Res.*, 27(1): 53 – 58. [范立鹏，张真，刘艳侠，于占晶，孔祥波，2014. 杨小舟蛾羽化节律及羽化率影响因子分析. 林业科学研究，27(1): 53 – 58]

Frérot B, Malosse C, Milat ML, Demolin G, Martin JC, Khemici M, Zamoun M, Gach M, 1990. Chemical analysis of the sex pheromone glands of *Thaumetopoea bonjeani* (Lep., Thaumetopoeidae). *J. Appl. Entomol.*, 109(1 – 5): 210 – 212.

Gaston LK, Shorey HH, Saario CA, 1967. Insect population control by the use of sex pheromones to inhibit orientation between the sexes. *Nature*, 213(5081): 1155.

Guerrero A, Camps F, Coll J, Riba M, Einhorn J, Descoins C, Lallemand JY, 1981. Identification of a potential sex pheromone of the processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae). *Tetrahedron. Lett.*, 22(21): 2013 – 2016.

Guo TB, Ji BZ, Zhuge Q, Huang MR, 2007. Effect of transgenic poplars on the activities of detoxification enzymes in *Micromelalopha troglodyta* larvae. *Sci. Silv. Sin.*, 43(5): 59 – 63. [郭同斌，嵇保中，诸葛强，黄敏仁，2007. 转基因杨树对杨小舟蛾幼虫解毒酶活性的影响. 林业科学，43(5): 59 – 63]

Guo TB, Wang ZY, Liang B, Yang ZL, Qian GZ, Zhou Y, Yu AX, Huang XH, 2000. Bionomics of *Micromelalopha troglodyta*. *J. Nanjing For. Univ.* (*Nat. Sci. Ed.*), 24(5): 56 – 60. [郭同斌，王振营，梁波，杨中林，钱桂芝，周勇，于爱香，黄秀花，2000. 杨小舟蛾的生物学特性. 南京林业大学学报(自然科学版)，24(5): 56 – 60]

Halperin J, 1985. Mating disruption of the pine processionary caterpillar by pityolure. *Phytoparasitica*, 13(3 – 4): 221 – 224.

Hu M, Xu B, Gao YG, Xue YY, Wang AJ, 2016. Control experiment of *Bacillus thuringiensis* against *Micromelalopha troglodyta* (Graeser). *For. Pest Dis.*, (3): 45 – 46. [胡猛，许冰，高玉国，薛玉燕，王安静，2016. 苏云金杆菌防治杨小舟蛾试验. 中国森林病虫，(3): 45 – 46]

Kong XB, Zhao CH, Zhang Z, Wang HB, 2004. Determination of double bond position in conjugated dienes in sex pheromones of *Dendrolimus* spp. *Chin. J. Chrom.*, 22(2): 97 – 100. [孔祥波，赵成华，张真，王鸿斌，2004. 松毛虫性信息素共轭双键定位方法的研究. 色谱，22(2): 97 – 100]

Kong XB, Zhao LL, Zhang Z, Wang HB, 2010. A simple method to determine the double bond position in monounsaturated insect pheromone compounds. *Acta Entomol. Sin.*, 53(6): 634 – 639. [孔祥波，赵莉蔺，张真，王鸿斌，2010. 一种用于昆虫性信息素成分单不饱和双键定位的简便方法. 昆虫学报，53(6): 634 – 639]

Liang ZP, Zhang XX, Song AD, Peng HY, 2006. Biology of *Clostera anachoreta* and its control methods. *Chin. Bull. Entomol.*, 43(2): 147 – 152. [梁振普，张小霞，宋安东，彭辉银，2006. 杨扇舟蛾的生物学特性及其防治方法. 昆虫知识，43(2): 147 – 152]

Ma T, Lin N, Zhou LL, Shi XH, Zhou QH, Wang C, Sun CH, Chen XY, He YR, Wen XJ, 2018. Research progress and application prospect of insect sex pheromone mating disruption. *For. Res.*, 31(4): 172 – 182. [马涛，林娜，周丽丽，史先慧，周秋宏，王偲，孙朝辉，陈晓阳，何余容，温秀军，2018. 性信息素迷向干扰防控害虫的研究进展及应用前景. 林业科学研究，31(4): 172 – 182]

McElfresh JS, Millar JG, 1999. Sex pheromone of the common sheep moth, *Hemileuca eglanterina*, from the San Gabriel Mountains of California. *J. Chem. Ecol.*, 25(4): 687 – 709.

Mori BA, Evenden ML, 2015. Challenges of mating disruption using aerosol-emitting pheromone puffers in red clover seed production fields to control *Coleophora deauratella* (Lepidoptera: Coleophoridae). *Environ. Entomol.*, 44(1): 34 – 43.

Mori K, 1996. Molecular asymmetry and pheromone science. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60: 1925 – 1932.

Qian GZ, Guo TB, Xu Q, 2008. Research progress on biology and bionomics of *Micromelalopha troglodyta* (Graeser). *J. Jiangsu. For. Sci. Technol.*, 35(1): 52 – 55. [钱桂芝，郭同斌，胥谦，2008. 杨小舟蛾生物学与生态学研究进展. 江苏林业科技，35

(1): 52 –55]

Roelofs WL, 1971. Chemical Releasers in Insects. Gordon & Breach, New York. 91 –114.

Silk PJ, Lonergan GC, Allen DC, Spear-O′Mara J, 2000. Potential sex pheromone components of the saddled prominent (Lepidoptera: Notodontidae). *Can. Entomol*., 132(5): 681 –684.

Sun Y, Yu WJ, Wang Q, Song XS, Liu X, 2016. Study on the insecticidal active of the crude extracts of two kinds of plants to the *Micromelalopha troglodyta* (Graeser). *For. Sci. Tech*., 41(4): 74 –76.[孙妍, 遇文婧, 王琪, 宋小双, 刘欣, 2016. 两种植物粗提物对杨小舟蛾的杀虫活性初探. 林业科技, 41(4): 74 –76]

Takano I, Kuwahara Y, Howard RW, Suzuki T, 1989. Location of double bond positions in conjudated alkadienes by electron impact mass spectrometry of 3, 4-dimethylthio-substituted thiolane derivatives. *Agric. Biol. Chem*., 53(5): 1413 –1415.

Tang F, Zhang XB, Liu YS, Gao XW, Liu NN, 2014. *In vitro* inhibition of glutathione S-transferases by several insecticides and allelochemicals in two moth species. *Int. J. Pest. Manag*., 60(1): 33 –38.

Tang F, Zhou YB, Zhang XB, Liu YS, Gao XW, 2009. The effect on glutathione S-transferases by 2-tridecanone and quercetin in *Micromelalopha trogiodyta* (Lepidoptera: Notodontidae). *Acta Phytophy. Sin*., 36(4): 377 –378.[汤方, 周玉宝, 张秀波, 刘玉升, 高希武, 2009. 2-十三烷酮和槲皮素对杨小舟蛾谷胱甘肽S-转移酶活性的影响. 植物保护学报, 36(4): 377 –378]

Wang AJ, Zhang KX, Mei XD, Gao YL, Zhang T, Zhe DM, Ning J, 2018. Research progress on mechanisms and applications of insect mating behavior disruption by insect sex pheromones and analogues. *Chin. J. Pestic. Sci*., 20(4): 425 –438.[王安佳, 张开心, 梅向东, 高玉林, 张涛, 折冬梅, 宁君, 2018. 昆虫性信息素及其类似物干扰昆虫行为的机理和应用研究进展. 农药学学报, 20(4): 425 –438]

Wang SF, Sun HZ, Huang YP, Jiang LH, Tang DW, 1999. Study of sex pheromone of *Clostera anastomosis* (Lepidoptera: Notodontidae). *J. Central South Univ. For. Tech*., (2): 11 –14.[王淑芬, 孙汉洲, 黄勇平, 江丽辉, 唐大武, 1999. 杨树分月扇舟蛾性信息素研究. 中南林业科技大学学报, (2): 11 –14]

Wu CS, Fang CL, 2003. Fauna Sinica. Insecta, Vol. 31. Lepidoptera: Notodontidae. Science Press, Beijing.[武春生, 方承莱, 2003. 中国动物志. 昆虫纲, 第31卷. 鳞翅目: 舟蛾科. 北京: 科学出版社]

Yu YH, Guo JZ, Guo TB, Song MH, Yan XW, 2015. Effect of parasitism of *Tetrastichus nigricoxae* Yang on the encapsulation response of its host, *Micromelalopha troglodyta* Graeser pupae and toxicity of its venom to pupal host. *J. Jiangsu For. Sci. Technol*., 42(3): 1 –5.[于艳华, 郭加忠, 郭同斌, 宋明辉, 颜学武, 2015. 白蛾黑基啮小蜂寄生对杨小舟蛾蛹血细胞包囊反应的影响及其毒液对蛹的毒性研究. 江苏林业科技, 42(3): 1 –5]

Zhang HY, Kong XB, Zhang Z, Jin YJ, 2007. Study status of notodontid (Notodontidae, Lepidoptera) sex pheromones. *Chin. Agric. Bull*., 23(6): 477 –482.[张慧艳, 孔祥波, 张真, 金幼菊, 2007. 舟蛾科昆虫性信息素研究现状. 中国农学通报, 23(6): 477 –482]

Zhang QH, Paiva MR, 1998. Female calling behavior and male response to the sex pheromone in *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae). *J. Appl. Entomol*., 122(1 –5): 353 –360.

Zhao AL, Ma YL, Sun Q, Jiang ZH, Sun JZ, Feng L, 2002. Trapping popular defoliating insects with Jiaduo frequency trembler grid lamps. *For. Pest Dis*., 21(s1): 35 –36.[赵爱玲, 马永亮, 孙强, 姜自豪, 孙景芝, 冯琳, 2002. 佳多频振式杀虫灯诱杀杨树食叶害虫初报. 中国森林病虫, 21(s1): 35 –36]

(责任编辑: 赵利辉)